



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

**UNIVERSIDAD
NACIONAL
AGRARIA**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

**FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE VETERINARIA**

Trabajo de Graduación

**Bacterias aisladas en muestras de otitis en
caninos (*Canis lupus familiaris*) remitidos al
Laboratorio Veterinario (LABVET) en el
periodo de enero 2015 - febrero 2018**

AUTORES:

**Br. Berrios Fuentes Kevin Eduardo
Br. Martínez Payan Jennifer Yaoska**

ASESOR:

Msc. Deleana del Carmen Vanegas

Abril 2018



Por un Desarrollo Agrario
Integral y Sostenible

**UNIVERSIDAD
NACIONAL
AGRARIA**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

**FACULTAD DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE VETERINARIA**

Trabajo de Graduación

**Bacterias aisladas en muestras de otitis en
caninos (*Canis lupus familiaris*) remitidos al
Laboratorio Veterinario (LABVET) en el
periodo de enero 2015 - febrero 2018**

AUTORES:

Br. Berrios Fuentes Kevin Eduardo

Br. Martínez Payan Jennifer Yaoska

ASESOR:

Msc. Deleana del Carmen Vanegas

Abril 2018

INDICE	
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
INDICE DE CUADROS	iv
INDICE DE FIGURA	v
INDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
I. INTRODUCCION	1
II. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo General.....	2
2.2. Objetivos específicos	2
III. MATERIALES Y METODOS	3
3.1. Ubicación del área del estudio	3
3.2. Diseño metodológico	3
3.3. Variables evaluadas	4
3.4 Recolección de datos	4
3.5. Procedimiento del estudio.....	4
3.6. Toma de la muestra.....	4
3.7. Fase de laboratorio.....	6
3.8. Aislamiento Bacteriano.....	10
3.9. Pruebas Bioquímicas.....	16
3.10. Susceptibilidad.....	26
3.11. Mecanismos de resistencia.....	31
3.12. Análisis de datos	34
3.13. Materiales y equipos	35
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	46
VII. BIBLIOGRAFIA	47
VIII. ANEXOS	49

DEDICATORIA

A:

Dios por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Mi madre Fanny Fuentes, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por todo su amor.

Kevin Eduardo Berríos Fuentes

DEDICATORIA

A:

Dios Padre por haberme otorgado la sabiduría, fortaleza y perseverancia durante estos 5 años de la carrera y culminar con éxito esta etapa final. Sin El nada de esto hubiese sido posible.

A mis padres Erick Martínez y Mayra payán por su infinito amor y apoyo incondicional, por sus consejos para hacer de mí una mejor persona y por haber creído en mí en todo momento.

Jeniffer Yaoska Martínez Payán

AGRADECIMIENTO

A:

Dios por habernos acompañado y guiado a lo largo de nuestra carrera, por su infinito amor y misericordia y ser nuestra fortaleza en todo momento.

Nuestros padres por habernos dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de nuestras vidas. Sobre todo, por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

Nuestros amigos que también nos ayudaron incondicionalmente en el transcurso de la elaboración de este proyecto y por creer en nosotros en todo momento.

Nuestra tutora Deleana Vanegas quien con sus conocimientos y experiencia logramos sacar adelante esta investigación. Nuestro más profundo y sincero agradecimiento por brindarnos todo su apoyo, compromiso y disposición; y por alentarnos con paciencia a seguir adelante en cada momento.

Profesores de nuestra Alma Mater por habernos transmitidos todos sus conocimientos a lo largo de la carrera.

Al laboratorio clínico veterinario LAB VET por permitirnos llevar a cabo nuestra investigación de culminación de estudio.

Kevin Eduardo Berríos Fuentes

Jeniffer Yaoska Martínez Payán

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
1. Toma de muestra	36
2. Preparación del medio	36
3. Inoculación de muestra	36
4. Proceso de tinción de la muestra	36
5. Identificación bacteriana	37
6. Medición de susceptibilidad	37

INDICE DE FIGURA

FIGURA	PÁGINA
1. Laboratorio clínico LAB VET	3
2. Área de bacteriología	3
3. Identificación de la zona afectada	4
4. Limpieza del área a muestrear	5
5. Medio de transporte AMIES	5
6. Toma de muestra	5
7. Identificación del medio	6
8. Pesaje agar cerebro corazón	6
9. Dilución de agar cerebro corazón	7
10. Esterilización en autoclave a 121 °C	7
11. Mezcla de agar cerebro corazón con 10ml de sangre	8
12. Pesaje de agar Mac Conkey	8
13. Dilución de agar Mc Conkey	9
14. Esterilización en autoclave	9
15. Agar Mac Conkey en placa doble	10
16. Medio con agar sangre y Mac Conkey	10
17. Medio de cultivo general (rojo) y selectivo (rosa)	10
18. Inoculación de la muestra	10
19. Esterilización de asa bacteriológica	11
20. Siembra de la muestra	11
21. Identificación del medio	11
22. Incubación del medio	12
23. Solución salina en porta objeto	12
24. Selección de UFC	13
25. Realización de extendido	13
26. Fijación de extendido	13
27. Tinción con cristal violeta	14

28. Tinción con yodo Lugol	14
29. Agregar alcohol acetona	14
30. Tinción con safranina	15
31. Observación al microscopio	15
32. Peróxido de hidrogeno	16
33. Peróxido en portaobjeto	16
34. Selección de UFC	16
35. Reacción catalasa	17
36. Suero sanguíneo	17
37. Solución salina	18
38. 1 ml de suero diluido en tubo de ensayo	18
39. Selección de UFC	18
40. Inoculación de UFC	18
41. Incubación de coagulasa	19
42 coagulasa positivo y negativo respectivamente	19
43. A: ornitina positivo B: ornitina negativa	20
44. Indol positivo	20
45. Indol negativo	20
46. Movilidad positiva	20
47. Movilidad negativa	20
48. H ₂ S positiva	21
49. H ₂ S negativo	21
50. Lisina descarboxilasa positivo	22
51. Lisina descarboxilasa negativo	22
52. Lisina desaminasa positiva	22
53. Lisina desaminasa negativa	22
54. TSI K/A (alcalino sobre ácido)	24
55. TSI K/K (alcalino sobre alcalino)	24
56. H ₂ s positivo/ productor de gas positivo	24
57. TSI A/A (ácido sobre ácido)	24

58. Reaccion positiva	25
59. Reaccion negativa	25
60. Reaccion positiva	26
61. Reaccion negativa	26
62. Agar Muller Hinton	27
63. Dilución de agar	27
64. Autoclave a 121 °C	27
65. Medio Muller Hinton	28
66. Temperar el medio	28
67. 3 ml de solución salina	28
68. dilución de UFC	28
69. Selección de UFC	28
70. Escala de Mc Farland	29
71. Hisopo sumergido en dilución de UFC	29
72. Eliminación del exceso	29
73. Inoculación de la dilución	29
74. Selección de antibióticos	29
75. Marcar el área donde se pondrán los antibióticos	30
76. colocar los discos de antibiótico	30
77. Incubación de antibiograma a 37° C	30
78. Halos de inhibición	31
79. Ampliación de Halo de inhibición en BLEE	32
80. Achatamiento de Halo de inhibición de ceftriaxona	33
81. Crecimiento de colonias dentro del Halo de inhibición	34
82. Principales especies de bacterias involucradas en otitis	38
83. Sensibilidad de los microorganismos aislados ante los antibióticos expuestos	41
84. Resistencia de los microorganismos aislados ante los antibióticos expuestos	43
85. Mecanismo de resistencia en los cambios de antibiograma	45

INDICE DE ANEXOS	
ANEXO	PÁGINA
1. Antibiótico utilizado	48
2. Formato de hoja de registro	49
3. Lista de halos de inhibición CLSI	50

RESUMEN

El objetivo del presente estudio es determinar las principales especies de bacterias involucradas con más frecuencia en las otitis en caninos, la susceptibilidad a los antibacterianos y su mecanismo de resistencia, a través del aislamiento, por medio de la realización de cultivos óticos, así mismo dar a conocer los distintos microorganismos que pueden llegar a afectar el canal auditivo de los canes para realizar un diagnóstico acertado y establecer un correcto tratamiento. Se llevó a cabo en el laboratorio clínico veterinario LABVET, en el área de bacteriología. Consistió en el análisis de resultados de 52 aislamientos bacterianos del conducto auditivo. Se realizó con los datos suministrados por el laboratorio de cultivos realizados en periodo enero 2015 – febrero 2018. Las principales especies de bacterias que se aislaron fueron: *Proteus mirabilis* (19%), *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus pseudintermedius* (15) y *Pseudomonas aeruginosa* más *Proteus spp* (10%). 13 agentes resultaron tener sensibilidad ante la enrofloxacin; presentando *Serratia marcescens* un 100%, *Pseudomonas aeruginosa* más *Escherichia coli* un 50%. 12 agentes presentaron sensibilidad a ceftriaxona; de los cuales resultaron con mayor sensibilidad *Proteus vulgaris* y *Klebsiella pneumoniae* con un 33%, *Escherichia coli* 29%, y *Staphylococcus pseudintermedius* más *Proteus spp*; *Pseudomonas aeruginosa* más *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* con un 25%. 10 agentes resultaron sensibles a gentamicina; *Pseudomonas aeruginosa* más *Proteus spp*. con un 40%, *Pseudomonas aeruginosa* 29%, *Pseudomonas aeruginosa* más *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius*. Los mecanismos de resistencias que presentaron las bacterias aisladas durante el estudio, fueron: heteroresistencia (53%), cefalosporinas mediadas cromosómicamente (AmpC) o cefalosporinasas (33%) y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (11%).

Palabras clave: Bacterias, Aislamiento, Identificación, Susceptibilidad, Mecanismo de resistencia.

ABSTRACT

The objective of the present study is to determine the main bacterial species most frequently involved in otitis in dogs, the susceptibility to antibacterials and their mechanism of resistance, through isolation, through the production of ear cultures, as well as to know the different microorganisms that can affect the auditory canal of the dogs to make an accurate diagnosis and establish a correct treatment. It was carried out in the LABVET veterinary clinical laboratory, in the area of bacteriology. It consisted in the analysis of the results of 52 bacterial isolations of the auditory canal. It was carried out with the data provided by the culture laboratory carried out in the period January 2015 - February 2018. The main species of bacteria that were isolated were: *Proteus mirabilis* (19%), *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus pseudintermedius* (15) and *Pseudomonas aeruginosa* plus *Proteus. spp* (10%). 13 agents were found to be sensitive to enrofloxacin; presenting *Serratia marcescens* 100%, *Pseudomonas aeruginosa* plus *Escherichia coli* 50%. 12 agents presented sensitivity to ceftriaxone; of which *Proteus vulgaris* and *Klebsiella pneumoniae* with 33% were more sensitive, *Escherichia coli* 29%, and *Staphylococcus pseudintermedius* plus *Proteus spp*; *Pseudomonas aeruginosa* plus *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* plus *Staphylococcus pseudintermedius* with 25%. 10 agents were sensitive to gentamicin; *Pseudomonas aeruginosa* plus *Proteus spp.* with 40%, *Pseudomonas aeruginosa* 29%, *Pseudomonas aeruginosa* plus *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* plus *Staphylococcus pseudintermedius*. The mechanisms of resistance that the isolated bacteria showed during the study were: heteroresistance (53%), chromosomally mediated cephalosporins (AmpC) or cephalosporinases (33%) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) (11%).

Key words: Bacteria, Isolation, Identification, Susceptibility, Mechanism of resistance.

I. INTRODUCCION

Un oído normal y sano tiene buenas defensas, como las glándulas sebáceas y ceruminosas, que conforman una barrera contra el ingreso de agentes extraños. Sin embargo, el canal auditivo canino es un ambiente vulnerable a cualquier cambio por lo que alteraciones anatómicas o fisiológicas, disturbios ambientales, parasitarios, de hipersensibilidad, o inmunitarios, promueven un desequilibrio del microclima y alteran la resistencia del hospedero favoreciendo la proliferación de microorganismos como bacterias, hongos, levaduras y parásitos pudiendo ocasionar diversas patologías (Craig, 2008).

El conducto auditivo debe mantenerse aireado y limpio, es por eso que una correcta limpieza e higiene de este favorecerá a prevenir la aparición de las distintas patologías que puedan afectar al mismo, como en el caso de las otitis, que son las afectaciones más frecuentes del canal auditivo (Castro, s/f).

La otitis es la inflamación del conducto auditivo (Craig, 2008). Es una enfermedad de etiología multifactorial que afecta a los caninos, y se encuentra asociada mayormente a infecciones causadas por bacterias y levaduras, que muchas veces no responden a los tratamientos con antibióticos (Cole, et al. 1998) (Taibo, 2003).

La estructura anatómica de la oreja del perro predispone la presentación de esta patología, ya que la forma del cartílago auricular crea un ambiente oscuro y de poca ventilación que favorece la proliferación de bacterias (Dyce, 1999) (Craig, 2008). Asimismo, la edad y la raza son factores asociados a los cuadros de otitis. (Sánchez, et al. 2014)

El examen del oído debe formar parte del examen físico rutinario. Esto con el fin de descartar la presencia de inflamación, infección, masas o cuerpos extraños. Será necesario disponer de un otoscopio y un cono de otoscopio del tamaño adecuado (Muller y Kirk, 2002).

Consideramos que este documento permitirá al médico veterinario conocer las diferentes especies de bacterias que se asocian con mayor frecuencia a la presentación de otitis en la clínica diaria. Y que de esta manera incluyan la realización de exámenes complementarios como métodos diagnósticos para instaurar un correcto tratamiento.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Analizar las bacterias aisladas en las muestras de otitis de caninos remitidos al Laboratorio Veterinario (LABVET) en el periodo de enero 2015- febrero 2018.

2.2. Objetivos específicos

Identificar las principales especies de bacterias involucradas en las otitis en caninos atendidos en LABVET a través de su aislamiento por medio de la realización de cultivos óticos y pruebas especiales de identificación (Pruebas bioquímicas).

Determinar la susceptibilidad de los microorganismos aislados por medio del antibiograma ante los antibióticos a los que fueron expuestos.

Exponer los mecanismos de resistencia mediante la observación de los cambios en el antibiograma.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. Ubicación del área del estudio

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio clínico veterinario LABVET, en el área de bacteriología. Dicho laboratorio se encuentra localizado en el municipio de Managua, departamento de Managua, en la colonia Nicarao, de los nacatamales Nicarao 1/2 cuadra al noreste, sobre la pista mano derecha.

El laboratorio clínico veterinario LAB VET está ubicado en el departamento de Managua con las coordenadas geográficas 12°07'40" Norte, 86°14'07" Oeste. (Google maps, 2018) Limita al norte con Reparto Santa Julia, al este con Barrio Santos López, oeste con Colonia 14 de septiembre y al sur con Barrio Unión Soviética.



Figura 1 Laboratorio clínico LABVET Fuente Berrios y Martínez (2018).

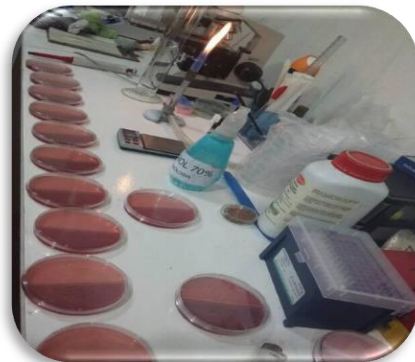


Figura 2. Área de bacteriología Fuente Berrios y Martínez (2018).

El laboratorio ofrece servicios de análisis clínico de rutina y pruebas especiales. Cuenta con áreas de Hematología, Uroanálisis, Coprología, Dermoscopía, Serologías, Microbiología, Patología, Bioquímica sanguínea y Transfusión sanguínea. Dichos servicios están dirigidos tanto a animales de compañía como a animales de producción.

3.2. Diseño metodológico

El estudio realizado fue llevado a cabo en el periodo de enero 2015- febrero 2018, es de carácter transversal no experimental y consistió en el análisis de los resultados de aislamientos bacterianos del conducto auditivo de 52 caninos (*Canis lupus familiaris*) que fueron remitidos al laboratorio, y así establecer que bacterias afectaron con más frecuencia el conducto auditivo, y a la vez los mecanismos de resistencia que estas llegaron a presentar.

3.3. Variables evaluadas

Prevalencia de agentes que causan otitis

$$P = \frac{\text{número de casos por agente etiológico}}{\text{Total de casos con otitis}}$$

Lectura e interpretación del antibiograma

Medición de los halos de inhibición en el antibiograma:

- Sensible
- Resistente

Los mecanismos de resistencia de las bacterias

- Betalactamasa de espectro extendido (BLEE)
- Cefalosporinas Mediadas Cromosómicamente (AmpC)
- Heteroresistencia

3.4 Recolección de datos

La recolección de datos se obtuvo mediante la solicitud de los resultados de muestreos realizados en caninos a partir de enero 2015 – febrero 2018.

3.5. Procedimiento del estudio

3.6. Toma de la muestra

Las muestras fueron obtenidas mediante hisopados del canal auditivo externo de caninos (*canis lupus familiaris*) remitidos al laboratorio.

1. En primer lugar, se identificó la zona afectada.



Figura 3. Identificación de la zona afectada Berrios y Martínez (2018).

2. En seguida se limpió el área donde se tomaron las muestras con solución salina y gazas estériles.



*Figura 4. Limpieza del área a muestrear
Berrios y Martínez (2018).*

3. Se utilizó para la toma de muestra un medio de transporte AMIES con carbón activado el cual contenía un hisopo estéril.



*Figura 5. Medio de transporte AMIES
Berrios y Martínez (2018).*

4. La muestra se recolectó haciendo movimientos circulares dentro del canal auditivo.



Figura 6. Toma de muestra Berrios y Martínez (2018).

5. Una vez terminado, se identificaron correctamente para luego ser procesadas bajo condiciones del Área de Bacteriología del laboratorio clínico veterinario LABVET, sembradas en un medio de cultivo selectivo: Agar Mc Conkey, y un medio de cultivo general: Agar Sangre.



Figura 7. Identificación del medio Berrios y Martínez (2018).

3.7. Fase de laboratorio

Preparación de medios de cultivo para aislamiento bacteriano

Debido a su pequeño tamaño las bacterias son estudiadas como poblaciones con el requisito de provenir de una sola célula, para obtener estas poblaciones es necesario cultivarlas utilizando medios que les proporcionen una fuente de alimento que favorezca el crecimiento y reproducción de estas (Casado et al. 2012).

Agar sangre

Para la preparación de Agar sangre se utilizó como base agar Infusión Cerebro Corazón (BHI por sus siglas en inglés):

47 g agar BHI.....1 litro de agua destilada

1. Se realizó en un matraz un preparado de 200ml que equivale a:

47 g agar BHI.....1000 ml agua destilada	}	9.4 g Agar Cerebro Corazón
X.....200 ml agua destilada		



Figura 8. Pesaje agar Cerebro Corazón (Romero, 2015)

2. Seguidamente se llevó a ebullición hasta la dilución completa con ayuda de un Hotplate.



Figura 9. Dilución de agar cerebro corazón (Romero, 2015)

3. Luego se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min.



Figura 10. Esterilización en autoclave a 121°C (Romero, 2015)

4. Por último, se dejó enfriar.

Para la preparación de Agar sangre se utilizó un 5% del preparado anterior equivalente a sangre entera humana:

100%.....200ml base BHI	}	10 ml de sangre entera
5%.....X		

5. Posteriormente se agregaron los 10 ml de sangre a los 200ml de la base Agar Infusión Cerebro Corazón.



Figura 11. Mezcla de agar cerebro corazón con 10 ml de sangre (Romero, 2015)

Agar Mac Conkey

Para la elaboración de Agar Mac Conkey se realizó lo siguiente:

51.5 g agar Mac Conkey.....1 litro de Agua destilada

1. Se realizó en un matraz un preparado de 200ml que equivale a:

51.5 g agar Mac Conkey..... 1000 ml agua destilada

X.....200ml agua destilada

} 10.3 g de Agar Mac
Conkey



Figura 12. Pesaje de agar Mac-Conkey (Perez, 2011)

2. Seguidamente se llevó a ebullición hasta la dilución completa con ayuda de un Hotplate.



Figura 13. Dilución de agar Mac-Conkey (Perez, 2011)

3. Luego se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min.



Figura 14. Esterilización en autoclave a 121°C (Romero, 2015)

4. Por último, se dejó enfriar.

- Una vez preparados los medios se utilizaron placas Petri doubles, añadiéndoles $\frac{1}{4}$ del alto por cada placa las cuales fueron marcadas con el nombre del medio y la fecha de preparación. Una vez fríos se cubrieron con papel aluminio y se almacenaron a una temperatura de 7°C de forma invertida hasta ser utilizados.



Figura 15. Agar Mac-Conkey en placa doble Berrios y Martínez (2018).



Figura 16. Medios con Agar sangre y Mac-Conkey Berrios y Martínez (2018).

3.8. Aislamiento Bacteriano

De las muestras obtenidas, se procedió a la siembra de las mismas en los medios general y selectivo:

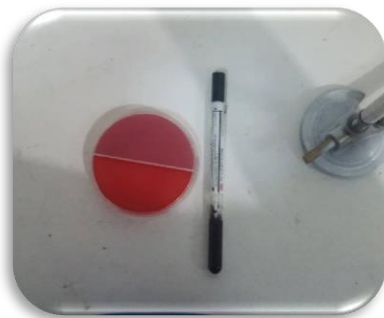


Figura 17. Medio de cultivo general (rojo) y selectivo (rosa) Berrios y Martínez (2018).

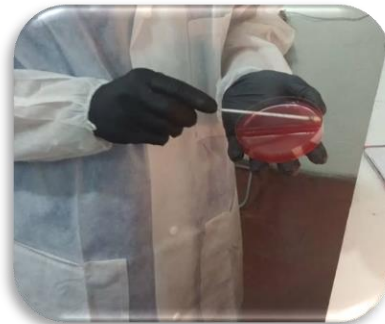


Figura 18. Inoculación de la muestra Berrios y Martínez (2018).

- Se realizó la inoculación de la bacteria en los extremos opuestos de cada medio, sembrando primero en Agar Sangre y luego en Agar Mac Conkey.

2. Se tomó un asa bacteriológica redonda esterilizada y se realizó un rastrillado por agotamiento en 3 direcciones distintas sobre cada medio.



Figura 19. Esterilización de asa bacteriológica Berrios y Martínez (2018).

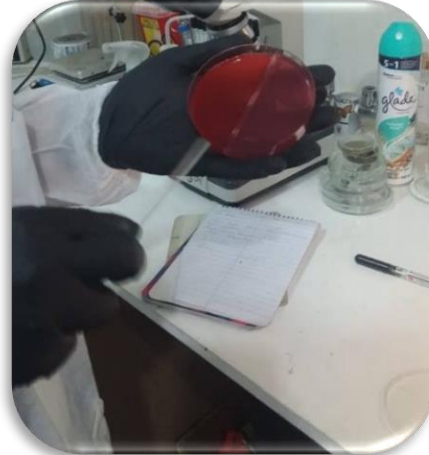


Figura 20. Siembra de la muestra Berrios y Martínez (2018).

3. Una vez realizado el rastrillado, se identificó el cultivo con el nombre del paciente, fecha de siembra y tipo de cultivo.

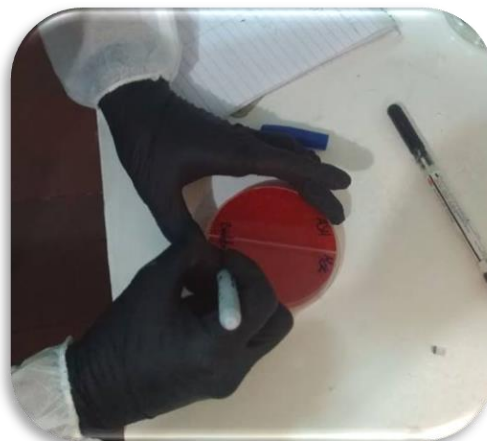


Figura 21. Identificación del medio Berrios y Martínez (2018).

4. Finalmente se incubó la muestra entre 12 - 48 horas a 37°C.



Figura 22. Incubación del medio Berrios y Martínez (2018).

Identificación macroscópica

Después de pasada las 12 - 48 horas se observó si hubo algún crecimiento en el medio.

Identificación microscópica

Para la identificación microscópica se utilizó tinción Gram para diferenciar el tipo de bacteria que fue aislada.

1. Se colocó en un portaobjeto una gota de solución salina.

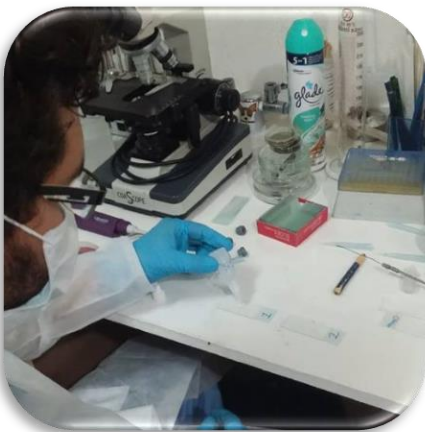


Figura 23. Solución salina en portaobjeto Berrios y Martínez (2018).

2. Seguidamente se tomó una UFC (Unidad formadora de colonia) de las que crecieron en el medio con un asa bacteriológica recta esterilizada en el mechero de Bunsen.



Figura 24. Selección de UFC Berrios y Martínez (2018).

3. Después se realizó un extendido.

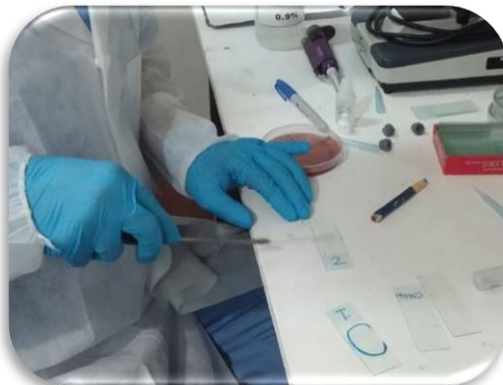


Figura 25. Realización del extendido Berrios y Martínez (2018).

4. Con la ayuda del mechero se fijó el extendido.

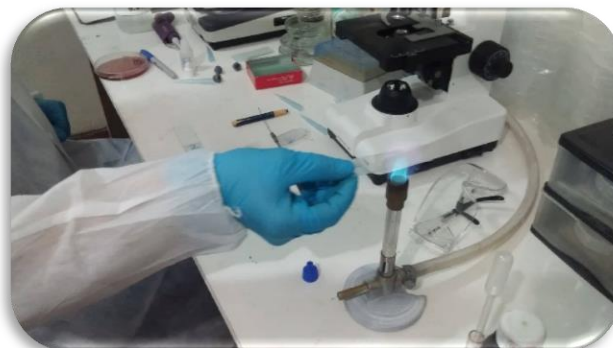


Figura 26. Fijación del extendido Berrios y Martínez (2018).

5. Una vez fijada la muestra, se cubrió con cristal violeta, se esperó 1 minuto y se enjuagó con agua.



Figura 27. Tinción con cristal violeta Berrios y Martínez (2018).

6. Seguidamente se añadió yodo Lugol, se esperó 1 minuto y se procedió a enjuagar.

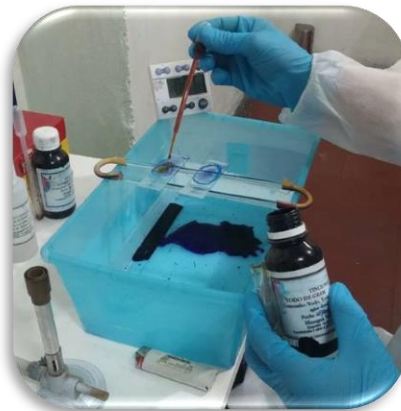


Figura 28. Tinción con yodo Lugol Berrios y Martínez (2018).

7. A continuación, se agregó alcohol acetona por 30 segundos y se enjuagó.

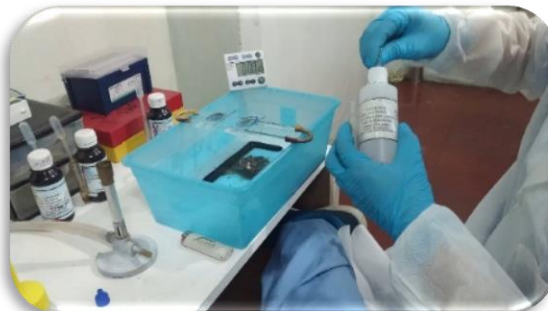


Figura 29. Agregar alcohol acetona Berrios y Martínez (2018).

8. Posteriormente se añadió safranina por 1 minuto e inmediatamente se enjuagó con agua como en los pasos anteriores.



Figura 30. Tinción con safranina Berrios y Martínez (2018).

9. Por último, se dejó secar y se procedió a su observación al microscopio en objetivo 100x con aceite de inmersión.



Figura 31. Observación al microscopio Berrios y Martínez (2018).

3.9. Pruebas Bioquímicas

Para identificar a que género pertenecía la bacteria aislada, se procedió a la realización de las pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa.

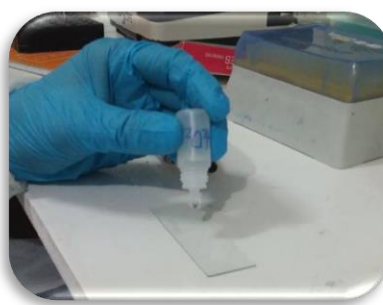
Prueba de catalasa

La catalasa es una enzima presente en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas. a prueba de la catalasa es un método rápido y fácil para la diferenciación de *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Todas las especies de *Streptococcus* son catalasa negativa y *Staphylococcus* son catalasa positiva. (Fernández y García, 2010).

1. Se colocó una gota de peróxido de hidrogeno en un porta objeto.

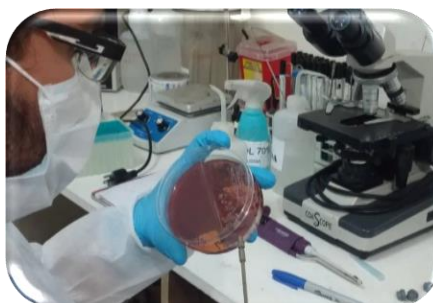


*Figura 32. Peróxido de hidrogeno
Berrios y Martínez (2018).*



*Figura 33. Peróxido en portaobjeto
Berrios y Martínez (2018).*

2. Con un asa bacteriológica esterilizada se tomó una UFC.



*Figura 34. Selección de UFC Berrios y
Martínez (2018).*

3. Por último, la colonia que fue tomada se expuso al peróxido de hidrogeno que había en el porta objeto.

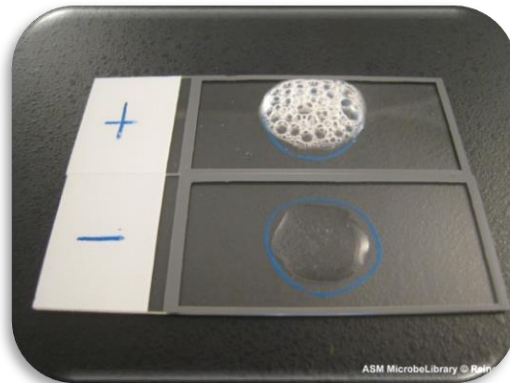


Figura 35. Reacción catalasa (Chaparro, 2015)

Prueba coagulasa

Esta prueba se utiliza para determinar las especies patógenas de *Staphylococcus* debido a la capacidad de coagular el plasma por la acción de la enzima coagulasa (Fernández y García, 2010).

Método en tubo:

1. Para la realización de esta prueba se tomaron 4 tubos de ensayo y se le agregó 1ml de suero sanguíneo citratado a cada uno.



Figura 36. Suero sanguíneo Berrios y Martínez (2018).

2. Se agregó a cada tubo 4 ml de agua destilada e inmediatamente se homogenizó.



Figura 37. Solución salina Berrios y Martínez (2018).

3. De la muestra diluida se tomó 1ml y se agregó a otro tubo de ensayo.

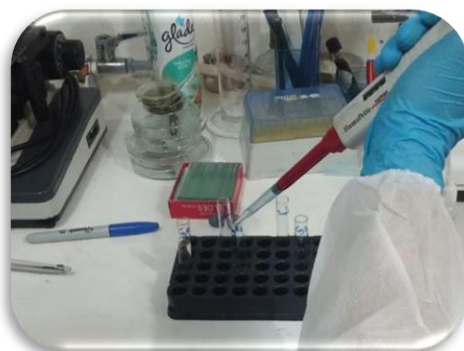


Figura 38. 1ml de suero diluido en tubo de ensayo Berrios y Martínez (2018).

4. Posteriormente se tomó el tubo y se le inoculó una UFC con la ayuda de un asa bacteriológica recta.

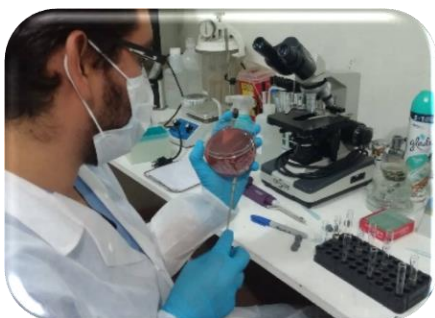


Figura 39. Selección de UFC Berrios y Martínez (2018).

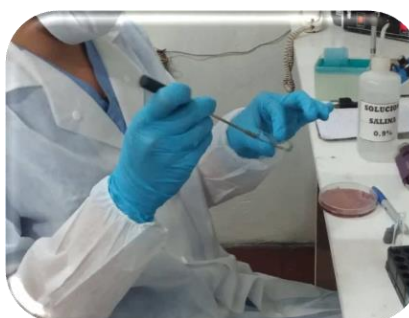


Figura 40. Inoculación de UFC Berrios y Martínez (2018).

5. Por último, se dejó incubar a 37°C durante 24 horas.



Figura 41. Incubación de coagulasa
Berrios y Martínez (2018).

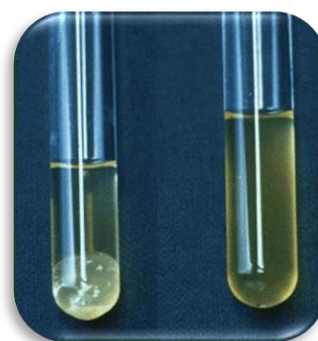


Figura 42. Coagulasa positiva y negativa
respectivamente (Chaparro, 2015)

Para la identificación de especies de enterobacterias se realizan las siguientes pruebas bioquímicas:

MIO (Movilidad Indol Ornitina)

Se usa para la identificación de *Enterobacteriáceas* en base a su movilidad, actividad de *Ornitina descarboxilasa* y producción de Indol. Por su composición, es posible detectar 3 reacciones en un mismo tubo: movilidad, presencia de *Ornitina descarboxilasa* e indol (Loreto, 2012)

Preparación

31g MIO.....	1000 ml agua destilada	}	1.6g MIO
X.....	50 ml agua destilada		

1. En un matraz Erlenmeyer se midieron los 50 ml de agua destilada y se agregó los 1.6 g de MIO.
2. Se cubrió la boquilla del matraz con un trozo de papel aluminio y se calentó en el Hotplate hasta llegar a su punto de ebullición sin dejar de agitar.
3. Se dejó enfriar sin permitir que este solidificara.
4. Una vez que este enfrió, se depositó 3ml en cada tubo de ensayo y se procedió a meter en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.
5. Por último, se colocó en una posición recta y se dejó solidificar.

Método de siembra

1. Con un asa bacteriológica recta esterilizada con la llama del mechero de Bunsen se tomó el inóculo (UFC) y se procedió a realizar la siembra por picadura o punción en forma vertical.
2. Por último, se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

Interpretación

Ornitina descarboxilasa

Positivo: Color púrpura del medio.

Negativo: Color amarillo en el fondo del tubo que puede ser púrpura al final.

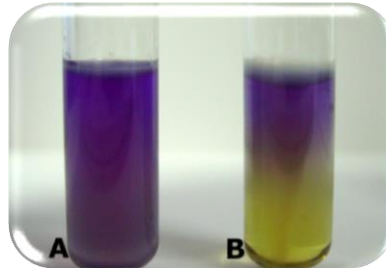


Figura 43. A: Ornitina Positivo B: Ornitina Negativo (Alvarez, 2015) (Hardy diagnostics, 2012)

Indol

Positivo: Anillo rojo en la superficie del medio.

Negativo: No se produce color/ color naranja en la superficie del medio. Indica desarrollo de escatol.



Figura 44.
Indol Positivo
(Hardy
diagnostics,
2012)



Figura 45.
Indol
negativo
(Hardy
diagnostics,
2012)

Movilidad

Positiva: Los organismos móviles migran fuera de la línea de siembra y se difunden en el medio provocando una turbidez.

Negativo: Crecimiento bacteriano acentuado siguiendo la línea de siembra .



Figura 46. Movilidad positiva
(Hardy diagnostics, 2012)



Figura 47. Movilidad negativa
(Hardy diagnostics, 2012)

LIA (Agar Hierro Lisina)

Medio de cultivo utilizado para diferenciar enterobacterias basado en la descarboxilación/desaminación de la lisina y en la producción de ácido sulfhídrico (Loreto, 2012).

Preparación

35 g LIA.....	1000 ml agua destilada	}	1.8 g LIA
X.....	50 ml agua destilada		

1. En un matraz Erlenmeyer se midieron los 50 ml de agua destilada y se agregó los 1.8 g de LIA.
2. Se cubrió la boquilla del matraz con un trozo de papel aluminio y se calentó en el Hotplate hasta llegar a su punto de ebullición sin dejar de agitar.
3. Se dejó enfriar sin permitir que este solidificara.
4. Una vez que este enfrió, se depositó 3ml en cada tubo de ensayo y se procedió a meter en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.
5. Por último, se colocó en una posición inclinada (pico de flauta) y se dejó solidificar.

Método de siembra

1. Se tomó un asa bacteriológica recta y se esterilizó con la llama del mechero de Bunsen, se tomó el inóculo (UFC) y se procedió a realizar la siembra por picadura y estría.
2. Por último, se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

Interpretación

Producción de H₂S

Resultado positivo: El desarrollo microbiano produce coloración negra en el medio de cultivo en todo el tubo.

Resultado negativo: Ausencia de coloración negra.

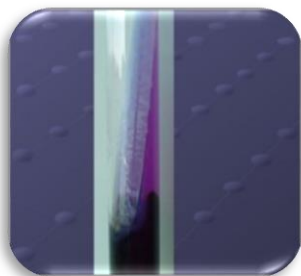


Figura 48. H₂S positivo
(Palomo, 2015)

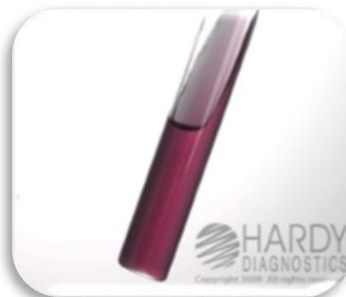
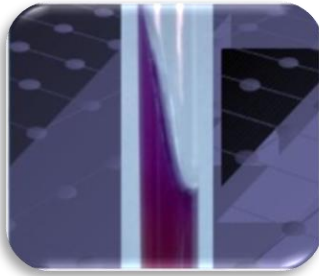


Figura 49. H₂S Negativo (Hardy
diagnostics, 2012)

Lisina descarboxilasa

Resultado positivo: Se verifica como alcalinización (K) del medio de cultivo con un viraje hacia el púrpura en todo el tubo, o como medio de cultivo neutro.

Resultado negativo: Se observa acidificación (A) con viraje hacia el amarillo en la columna del tubo, y alcalinización (color púrpura) en la zona inclinada.



*Figura 50. Lisina
descarboxilasa positiva
(Palomo, 2015)*

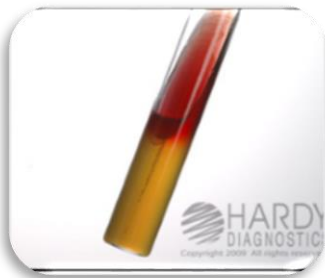


*Figura 51. Lisina
descarboxilasa negativa
(Hardy diagnostics, 2012)*

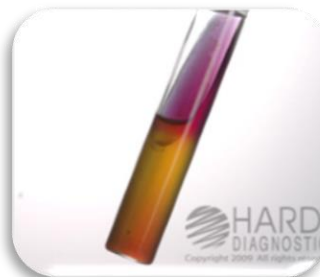
Lisina desaminasa

Resultado positivo: Producción de color rojo granate (R) en la superficie inclinada.

Resultado negativo: Ausencia de color rojo granate.



*Figura 52. Lisina
desaminasa positivo
(Hardy diagnostics,
2012)*



*Figura 53. Lisina
desaminasa negativo
(Hardy diagnostics, 2012)*

TSI (Triple azúcar hierro)

Medio universalmente empleado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de glucosa, lactosa, sacarosa y a la producción de ácido sulfhídrico (Loreto, 2012).

Preparación

62.5 g TSI.....	1000 ml agua destilada	}	3.2 g TSI
X.....	50 ml agua destilada		

1. En un matraz Erlenmeyer se midieron los 50 ml de agua destilada y se agregó los 3.2g de TSI.
2. Se cubrió la boquilla del matraz con un trozo de papel aluminio y se calentó en el Hotplate hasta llegar a su punto de ebullición sin dejar de agitar.
3. Se dejó enfriar sin permitir que este solidificara.
4. Una vez que este enfrió, se depositó 3ml en cada tubo de ensayo y se procedió a meter en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.
5. Por último, se colocó en una posición inclinada (pico de flauta profundo) y se dejó solidificar.

Método de siembra

1. Se tomó un asa bacteriológica recta y se esterilizó con la llama del mechero de Bunsen, se tomó el inóculo (UFC) y se procedió a realizar la siembra punzando con el asa recta en profundidad y estría con movimiento en zigzag en la superficie inclinada del agar.
2. Por último, se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

Interpretación

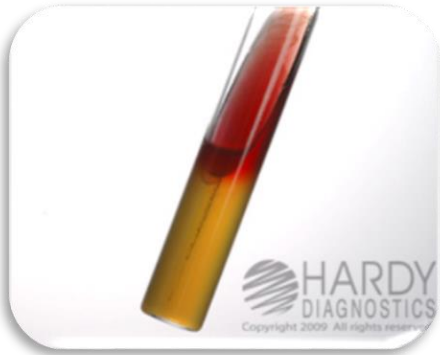
Rojo en pico de flauta: Alcalino; degradación aeróbica de glucosa; Amarillo en capa profunda: ácido; degradación anaeróbica de la glucosa.

Amarillo en pico: Acido; Amarillo en capa profunda: ácido.

Rojo en pico de flauta: Alcalino; Sin cambio de color en capa profunda: alcalina.

Producción de H₂S: Precipitado negro

Producción de gases: Producción de burbujas, descomposición del medio, ligera muesca del medio sobre el costado del tubo o desplazamiento del medio del fondo, dejando un espacio libre.



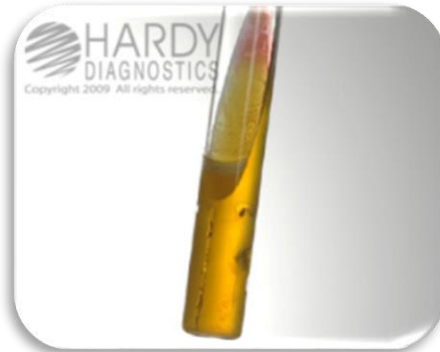
*Figura 54. TSI K/A (Alcalino sobre ácido)
(Hardy diagnostics, 2012)*



Figura 55. TSI K/K (Alcalino sobre alcalino) (Alvarez, 2015)



Figura 56. H₂S positivo/ Productor de gas positivo (Hardy diagnostics, 2012)



*Figura 57. TSI A/A (ácido sobre ácido)
(Hardy diagnostics, 2012)*

Citrato de Simmons

Medio utilizado para la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. (Loreto, 2012)

Preparación

Para la preparación de Citrato de Simmons se utilizó lo siguiente:

24.2 g Citrato.....	1000 ml agua destilada	}	1.3 g Citrato de Simmons
X.....	50 ml agua destilada		

1. En un matraz Erlenmeyer se midieron los 50 ml de agua destilada y se agregó los 1.3g de Citrato de Simmons.
2. Se cubrió la boquilla del matraz con un trozo de papel aluminio y se calentó en el Hotplate hasta llegar a su punto de ebullición sin dejar de agitar.
3. Se dejó enfriar sin permitir que este solidificara.
4. Una vez que este enfrió, se depositó 3ml en cada tubo de ensayo y se procedió a meter en la autoclave a 121°C durante 15 minutos.
5. Por último, se colocó en una posición inclinada (pico de flauta) y se dejó solidificar.

Método de siembra

1. Se tomó un asa bacteriológica recta y se esterilizó con la llama del mechero de Bunsen, se tomó el inóculo (UFC) y se procedió a realizar la siembra en forma de estría única (agotamiento) en la superficie inclinada del agar.
2. Por último, se incubó a una temperatura de 37°C durante 24 horas.

Interpretación

Positivo: Crecimiento y color azul en el pico de flauta.

Negativo: El medio permanece de color verde debido a que no hay crecimiento bacteriano.

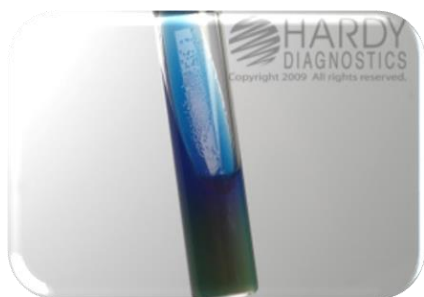


Figura 58. Reacción positiva (Hardy diagnostics, 2012)

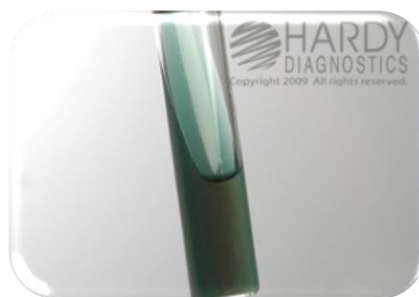


Figura 59. Reacción negativa (Hardy diagnostics, 2012)

Caldo urea de Stuart

Medio utilizado para la identificación de microorganismos, en base a la actividad ureásica. Es particularmente útil para diferenciar *Proteus* spp. de otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (Loreto, 2012).

Preparación

29 g urea.....	1000 ml agua destilada	} 1.5 g urea
X.....	50 ml agua destilada	

Método de siembra

El medio líquido se sembró con un asa de cultivo puro del microorganismo por probar.

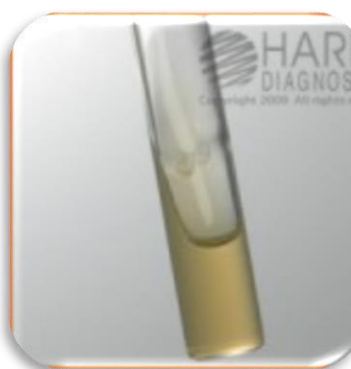
Interpretación

La prueba es positiva cuando se observa un cambio de color amarillo a rosado.

Es negativa cuando no hay cambio de color.



*Figura 60. Reacción positiva
(Palomo, 2015)*



*Figura 61. Reacción negativa (Hardy
diagnostics, 2012)*

3.10. Susceptibilidad

El estudio de la susceptibilidad a los antibióticos en las bacterias aisladas se realiza mediante el antibiograma, midiendo la sensibilidad de una bacteria ante los diferentes tipos de antibióticos (Cercenado, 2009). El primer objetivo del antibiograma es el de medir la sensibilidad de una cepa bacteriana a uno o varios antibióticos. El segundo objetivo del antibiograma es el de seguir la evolución de las resistencias bacterianas (Aulario, 2002).

Preparación de medio

Para la elaboración del antibiograma se utiliza como base Agar Mueller-Hinton.

38 g Mueller-Hinton..... 1 litro de agua

1. Se realizó un Preparado de 200 ml que equivale a

38 g Mueller-Hinton..... 1000 ml agua destilada

X..... 200 ml agua destilada

} 7.6 g de Agar Mueller-Hinton

2. Seguidamente se llevó a ebullición hasta la dilución completa con ayuda de un Hotplate.



Figura 62. Agar Mueller-Hinton (Perez, 2011)



Figura 63. Dilución de Agar (Perez, 2011)

3. Luego se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 min.



Figura 64. Autoclave a 121°C (Romero, 2015)

4. Por último, se dejó enfriar.

Una vez preparados los medios se utilizaron placas Petri sencillas, añadiéndoles $\frac{1}{4}$ del alto por cada placa las cuales fueron marcadas con el nombre del medio y la fecha de preparación, una vez enfriados se cubrieron con papel aluminio y se almacenaron a 7°C de forma invertida hasta ser utilizados.

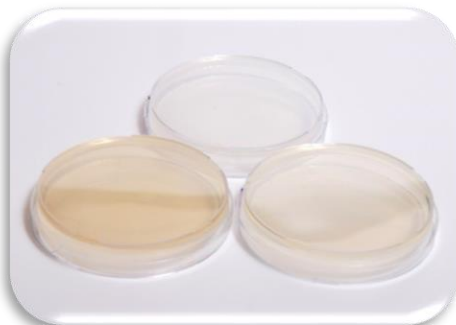


Figura 65. Medio Mueller-Hinton (Perez, 2011)

Montaje de antibiograma

1. Antes de montar el antibiograma se dejó que el medio estuviera a temperatura ambiente y se preparó el inóculo utilizando 3ml de solución salina en un tubo de ensayo.



Figura 66. Temperar el medio Berrios y Martínez (2018).



Figura 67. 3ml de solución salina Berrios y Martínez (2018).

2. Con un asa recta se agregó una UFC del cultivo.

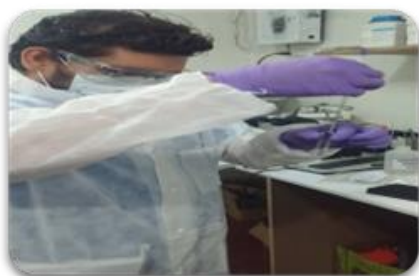


Figura 68. Dilución de UFC Berrios y Martínez (2018).



Figura 69. Selección de UFC Berrios y Martínez (2018).

3. Seguidamente se disolvió en la solución salina hasta obtener un grado de turbidez de N° 5 de la escala de Mc Farland.
4. Para la inoculación se sumergió un hisopo estéril en el cultivo y se eliminó el exceso rotándolo firmemente contra la pared interna del tubo.



Figura 70. Escala de Mc Farland Berrios y Martínez (2018).



Figura 71. Hisopo sumergido en dilución de UFC Berrios y Martínez (2018).



Figura 72. Eliminación del exceso Berrios y Martínez (2018).

5. Se procedió a destapar la placa y frotar con el hisopo la superficie del medio de cultivo repitiendo esta operación por tres veces sucesivamente, rotando la placa para obtener una dispersión uniforme del inóculo en toda la superficie.
6. Se tapó la placa y dejó secar el inóculo por 5 minutos, mientras se escogían los antibióticos a utilizarse.

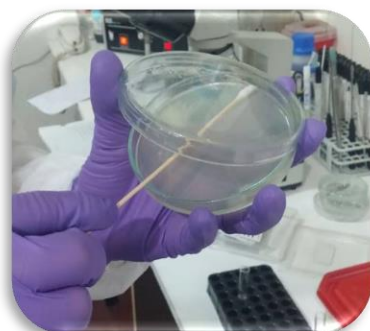


Figura 73. Inoculación de la dilución Berrios y Martínez (2018).



Figura 74. Selección de antibióticos Berrios y Martínez (2018).

7. Después de dejar reposar, se marcó el área en el medio de cultivo para antibiograma donde se colocaron 9 discos de antibióticos en dependencia de la bacteria encontrada sobre el agar mediante pinzas estériles y se realizó presión sobre los discos suavemente con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo dejando un espacio de manera que la distancia a la pared de la placa sea de 15 mm y la distancia entre ellos sea de 30 mm.



Figura 75. Marcar el área donde se pondrán los antibióticos Berrios y Martínez (2018).

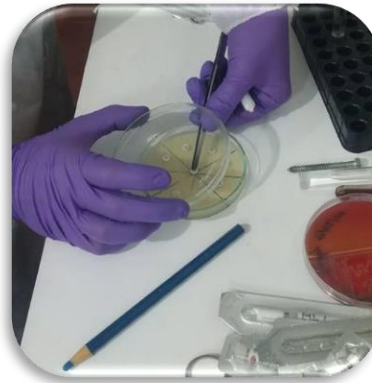


Figura 76. Colocar los discos de antibióticos Berrios y Martínez (2018).

8. Por último, se incubó a 37°C hasta el siguiente día (aproximadamente 18-19 horas).

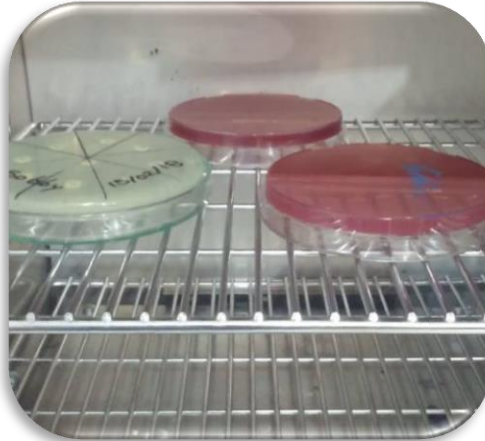


Figura 77. Incubación de antibiograma a 37°C Berrios y Martínez (2018).

Lectura

Tras el período de incubación se midió el diámetro del halo formado, este está en relación con el grado de sensibilidad del microorganismo. La carga del disco está ajustada para que los halos de inhibición permitan diferenciar los microorganismos sensibles de los resistentes.

1. Utilizando una regla milimetrada se midió el diámetro de cada halo formado en cada disco.
2. Con la ayuda de la lista de halos de inhibición del **Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio** (CLSI por sus siglas en inglés) se comparó el diámetro obtenido del antibiograma con los parámetros de la lista. (Ver Anexo 6)

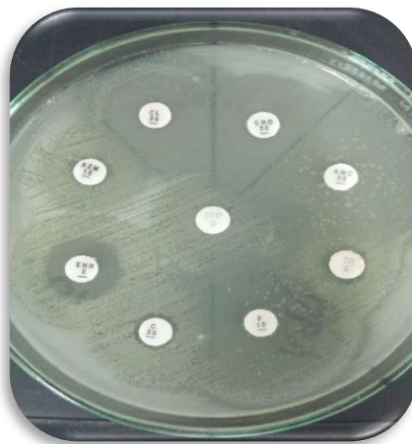


Figura 78. Halos de inhibición Berrios y Martínez (2018).

3.11. Mecanismos de resistencia

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico, generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico (Casallas, 2014).

Betalactamasa de espectro extendido (BLEE)

Las técnicas para la detección fenotípica de BLEE se basan en la propiedad que presentan la mayor parte de estas enzimas de ser inhibidas por ácido clavulánico y en la utilización de cefalosporinas de tercera y cuarta generación como indicadores (Casallas, 2014).

La prueba de sinergia de doble disco consiste en situar un disco con amoxicilina-ácido clavulánico próximo a discos de betalactámicos indicadores. La producción de BLEE se demuestra por la ampliación del halo de inhibición de cualquiera de los indicadores por la acción del ácido clavulánico (Calvo, 2011).

Prueba de sinergia de doble disco

1. Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.
2. Situar un disco con ceftriaxona a una distancia de 20-25 mm de un disco con amoxicilina ácido clavulánico.
3. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 16-20 horas.

Obtención y expresión de los resultados

Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

1. Positivo: Ampliación del halo de inhibición de ceftriaxona en la zona próxima al disco con amoxicilina ácido clavulánico (sinergia).
2. Negativo: No ampliación de los halos de inhibición de ceftriaxona



Figura 79. Ampliación de halos de inhibición en BLEE Berrios y Martínez (2018).

Cefalosporinasas Mediadas Cromosómicamente (AmpC)

Muchas bacterias gram negativas producen β -lactamasas tipo AmpC también conocidas como cefalosporinasas, las cuales en su mayoría son codificadas en cromosomas y unas pocas en plásmidos. Estas enzimas usualmente son resistentes a la inhibición por ácido clavulánico y son más activas frente a cefalosporinas (Calvo, 2011).

Prueba de discos combinados con inhibidor

1. Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.
2. Situar un disco con ceftriaxona o cefalexina a una distancia de 20-25 mm de un disco con amoxicilina ácido clavulánico.
3. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 16-20 horas.

Obtención y expresión de resultados

Examinar visualmente la apariencia de las zonas de inhibición. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

1. Positivo: Achatamiento del halo de inhibición de ceftriaxona o cefalexina en la zona próxima al disco con amoxicilina más ácido clavulánico
2. Negativo: No achatamiento de los halos de inhibición de las cefalosporinas. El resultado positivo se informará como cepa portadora de AmpC.



Figura 80. Achatamiento de halo de inhibición de ceftriaxona Berrios y Martínez (2018).

Hetero resistencia

Se emplea para referirse a las poblaciones que contienen una mayoría de bacterias inhibidas en concentraciones por debajo del punto de corte de sensibilidad, junto con otro pequeño número de microorganismos que son resistentes. (Calvo, 2011)

Para determinar si una población bacteriana posee cepas heteroresistentes se procede a:

1. Seguir el procedimiento estándar para la realización de un antibiograma por el método de difusión con discos e inocular una placa de agar Mueller-Hinton a partir de una suspensión de la cepa problema en solución salina con una turbidez equivalente a un 0,5 de la escala de McFarland.
2. Colocar discos de antibióticos a los cuales se expone la población bacteriana.
3. Incubar a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 16-20 horas.

Obtención y expresión de resultados

Examinar visualmente la apariencia del antibiograma. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

1. Positivo: Presencia de colonias dentro de los halos de inhibición.
2. Negativo: Ausencia de colonias dentro de los halos de inhibición.

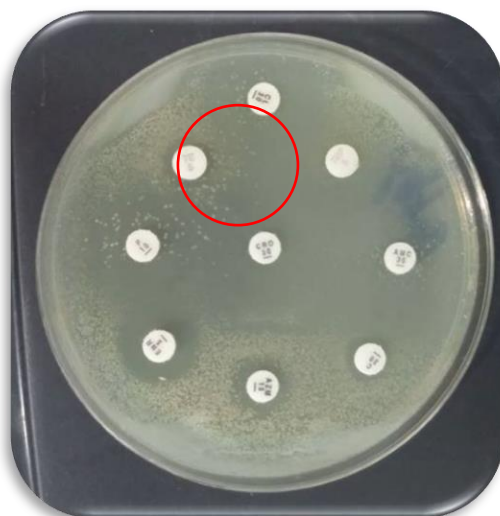


Figura 81. Crecimiento de colonias dentro de halos de inhibición Berrios y Martínez (2018).

3.12. Análisis de datos

De los datos recolectados se les realizó un análisis estadístico descriptivo porcentual mediante la utilización de tablas de contingencia.

3.13. Materiales y equipos

Cuadro 1. Toma de muestra	
Medio de transporte/ Hisopo estéril	Solución salina
Marcadores	Gazas estériles
Refrigerante	Bozal
Guantes	Tapaboca

Cuadro 2. Preparación de medios	
Agar Sangre	Urea de crhistensen
Agar MacConkey	Matraces
Agar Muller Hinton	Agua destilada
Agar Triple Sugar Iron	Hotplate
Agar Citrato de Simmons	Autoclave
Lisina hierro agar	Papel Aluminio
Movilidad indol ornitina Agar	Tubos de ensayo
Placas Petri	Tapaboca
Gafas protectoras	Temporizador
Gabachas desechables	Cucharas espátulas
Guantes	Balanza digital

Cuadro 3. Inoculación de muestra	
Asa Bacteriológica curva	Incubadora
Mechero	Gas butano
Gafas protectoras	Gabachas desechables
Guantes	Tapaboca
Encendedor	

Cuadro 4. Proceso de tinción de la muestra		
Mechero	Asa bacteriológica recta	Tabla de campo
Gas butano	Solución salina	Microscopio
Gafas protectoras	Cristal violeta	Aceite de inmersión
Gabachas desechables	Yodo Lugol	Pipetas pasteur
Guantes	Alcohol acetona	
Tapaboca	Safranina	
Encendedor	Porta objetos	

Cuadro 5. Identificación Bacteriana	
Mechero	Asa bacteriológica recta
Gas butano	Solución salina
Gafas protectoras	Peróxido de hidrogeno
Gabachas desechables	Pipetas automáticas
Guantes	Puntas de pipeta
Tapaboca	Porta objetos
Encendedor	Gradillas
Suero Sanguíneo	

Cuadro 6. Medición de susceptibilidad	
Mechero	Hisopo estéril
Gas butano	Discos de antimicrobiano
Gafas protectoras	Regla milimetrada
Gabachas desechables	Encendedor
Guantes	Tapaboca

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Principales especies de bacterias involucradas en las otitis en caninos atendidos en LABVET a través de su aislamiento por medio de la realización de cultivos óticos.

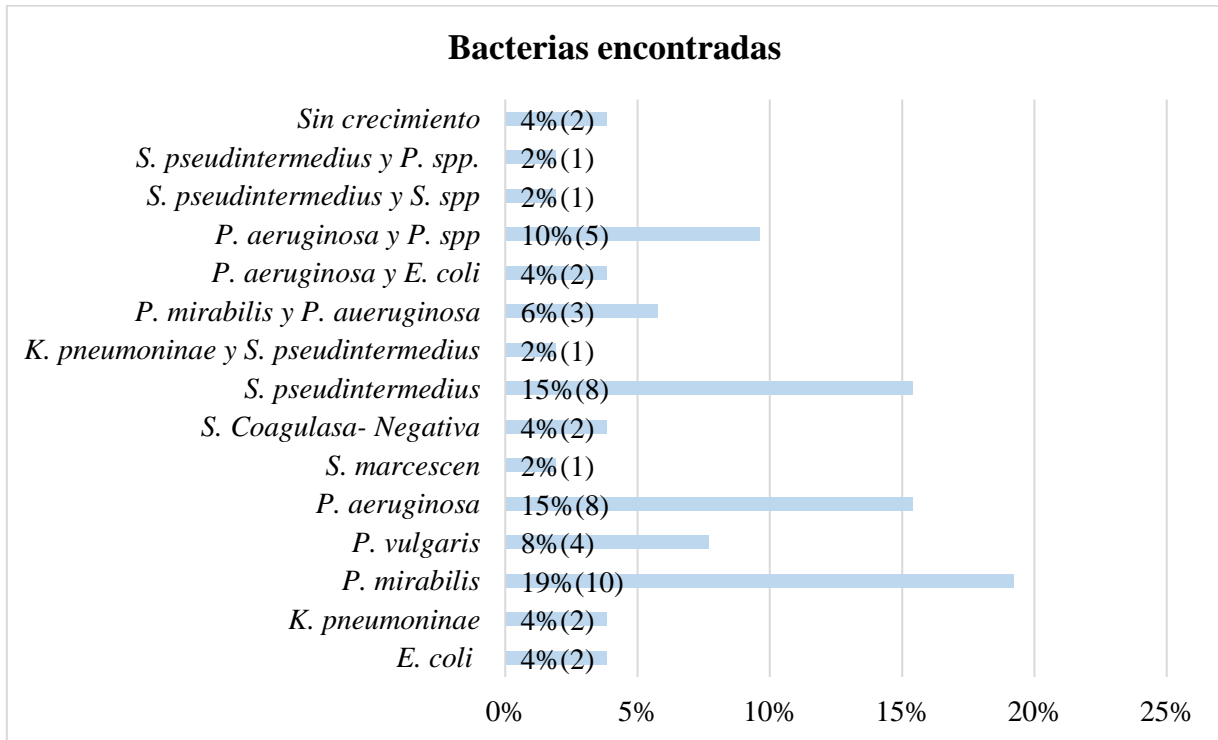


Figura 82. Principales especies de bacterias involucradas en otitis Berrios y Martínez (2018).

De los 52 casos en los que se realizó cultivo para determinar el tipo de bacteria que estaba afectando se obtuvieron los siguientes resultados:

Las bacterias que se aislaron con más frecuencia fueron: ***Proteus mirabilis*** con un 19% (10 casos), ***Pseudomona aeruginosa*** y ***Staphylococcus pseudintermedius*** ambos con un 15% (8 casos) y con un 10% (5 casos) los cultivos con crecimientos mixtos de ***Pseudomona aeruginosa*** y ***Proteus spp.***

Con menor frecuencia se aislaron: ***Proteus vulgaris*** en un 8% (4 casos), ***Pseudomona aeruginosa*** y ***Proteus mirabilis*** 6% (3 casos), ***Escherichia coli***, ***Klebsiella pneumoniae***, ***Staphylococcus coagulasa-positivo***, crecimientos mixtos de ***Pseudomona aeruginosa*** más ***Escherichia coli***, todos estos con un 4%(2 casos), ***Serratia marcescens*** y crecimientos mixtos de ***Klebsiella pneumoniae*** más ***Staphylococcus pseudintermedius***, ***Staphylococcus pseudintermedius*** más ***Streptococcus spp.*** ***Staphylococcus pseudintermedius*** más ***Proteus spp.*** todas ellas con un 2% (1 caso).

Según Vadillo, et al. (2003) el género *Proteus* comprende cuatro especies, de las cuales *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* son las más frecuentes en la naturaleza y las heces. *Proteus mirabilis* es un patógeno oportunista del hombre y los animales. Produce infecciones urinarias y otitis externa en el perro y gato.

Markey, et al. (2013) expresa que *Pseudomonas aeruginosa* es el patógeno más importante del género *Pseudomonas*. Estas bacterias son microorganismos del ambiente, comúnmente encontrados en el suelo, agua, plantas, frutas y vegetales.

Por más de 30 años, *Staphylococcus intermedius* fue considerado el causante común de infecciones en piel y tejido blando (Bannoehr, 2012). Sin embargo, recientes estudios han demostrado que aislamientos identificados fenotípicamente como *Staphylococcus intermedius* se han diferenciado en tres diferentes pero relacionadas especies *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius* y *Staphylococcus delphini* que juntos se refieren como SIG (Grupo *Staphylococcus intermedius*) (Sakaki, 2007). Este dato ha aclarado que *Staphylococcus pseudintermedius* y no *Staphylococcus intermedius* es la especie SIG la cual coloniza y causa infecciones en perros y gatos (Perreten, 2010).

En la investigación de Fernández (2006) diferentes grupos de bacterias fueron aisladas en medios de cultivos, presentándose con mayor frecuencia *Pseudomona aeruginosa* (22,22%), *Proteus mirabilis* (13,89%) y en menor frecuencia otros microorganismos.

Coincidiendo con el estudio de Fernández (2006), *Proteus mirabilis* y *Pseudomona aeruginosa* son las bacterias que con más frecuencia se encuentran asociadas a la presentación de otitis en caninos.

Otras investigaciones han demostrado la presencia de bacterias del género *Proteus* en otitis crónica. Martin (2001), aisló cepas pertenecientes a tres especies de enterobacterias: *Proteus mirabilis* (10 cepas, 13.7% del total), *E. coli* (9 cepas, 12.3%) y *Klebsiella oxytoca* (1 cepa, 1.3%).

La presencia de estas enterobacterias nos demuestra que el desarrollo de este tipo de otitis puede ser a causa de la falta de higiene y la acumulación de suciedad en el canal auditivo favoreciendo así el crecimiento y proliferación de estos microorganismos.

En los estudios de Pulido, Castañeda, Linares, & Mercado, 2010 los aislamientos bacterianos hallados en mayor proporción fueron: *Staphylococcus sp* en monocultivo con un 36.8% o en compañía de otros como *Streptococcus*, ∞ (alfa), β (beta), γ (gamma) hemolíticos, *Pseudomonas sp*, *E. coli*, *Klebsiella sp* en el 10.8%, de la misma manera cada uno de estos microorganismos se encontraron en monocultivo o en aislamientos mixtos.

En relación con Pulido, *et al.* (2010) los crecimientos mixtos se aislaron con menor frecuencia, sin embargo, este tipo de hallazgos son los que presentan un reto al momento de instaurar el tratamiento para contraatacar los diferentes tipos de otitis.

En las investigaciones de Abusleme (2009) De un total de 103 muestras de otitis externa canina, se aisló 53 (51,5%) cepas de SCP (*Staphylococcus-coagulasa positivo*). De estas cepas se identificaron: *S. intermedius* (73,6%), *S. schleiferi subsp. coagulans* (22,6%).

Tomando en cuenta los estudios de Sakaki (2007) y Abusleme (2009), *Staphylococcus pseudintermedius* es el principal agente que afecta a caninos, y en otitis de tipo aguda es el microorganismo que se encuentra con mayor predominancia.

4.2. Susceptibilidad de los microorganismos aislados por medio de antibiograma ante los antibióticos a los que fueron expuestos

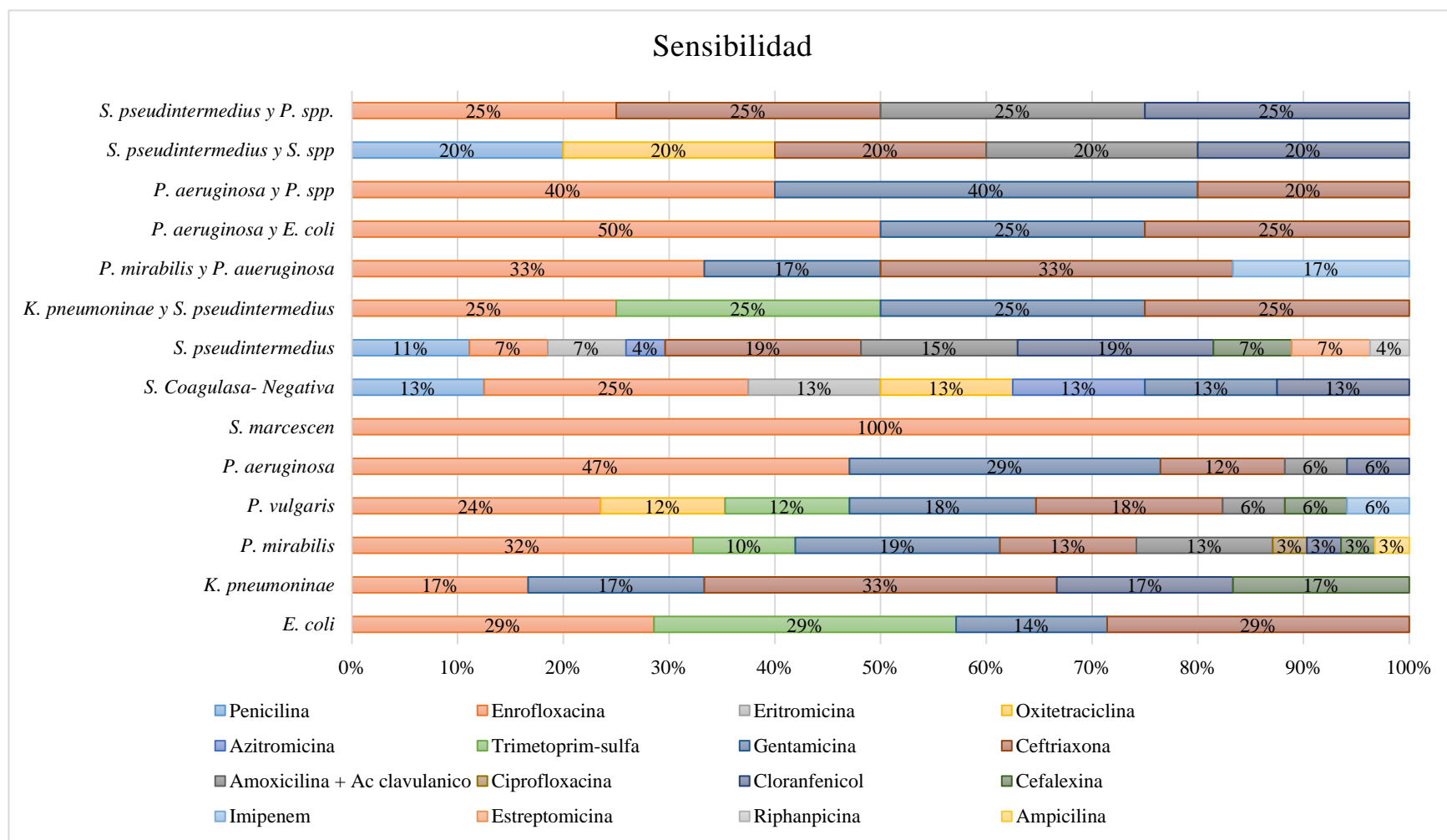


Figura 83. Sensibilidad de los agentes ante los antibióticos expuestos Berrios y Martínez (2018).

13 agentes resultaron tener sensibilidad ante la enrofloxacin; presentando *Serratia marcescens* un 100% , *Pseudomona aeruginosa* más *Escherichia coli* un 50%.

12 agentes presentaron sensibilidad a ceftriaxona; de los cuales resultaron con mayor sensibilidad *Proteus vulgaris* y *Klebsiella pneumoniae* con un 33%, *Escherichia coli* 29%, y *Staphylococcus pseudintermedius* más *Proteus spp*; *Pseudomona aeruginosa* más *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* con un 25%.

10 agentes resultaron sensibles a gentamicina; *Pseudomona aeruginosa* más *Proteus spp.* con un 40%, *Pseudomona aeruginosa* 29%, *Pseudomona aeruginosa* más *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* 25%.

El mayor nivel de susceptibilidad bacteriana a los antibióticos se presentó con la gentamicina (76.9%), ciprofloxacina (76.6%), norfloxacina (75.8%), enrofloxacin (62.5%) y amoxicilina combinada con el ácido clavulánico.

Los antibióticos con mayor susceptibilidad bacteriana son los antibióticos de elección para el tratamiento de la otitis canina. Estos resultados son similares a los de Sánchez, *et al.* (2014) quienes demostraron alta susceptibilidad bacteriana a las quinolonas, aminoglucósidos, cefalosporinas.

En la investigación de Lozano (2010) los antibióticos probados que presentaron mayores niveles de susceptibilidad fueron: amikacina (96.0%), gentamicina (80.2%), cefradina (80.0%), enrofloxacin (78.6%) y tobramicina (78.1%).

Los resultados obtenidos demuestran que quinolonas, aminoglucósidos y cefalosporinas de primera generación son los antibióticos de elección al momento de tratar una otitis, ya que estos brindan mejores resultados en este tipo de afección coincidiendo así con los estudios realizados por Lozano (2010).

En el estudio de Martin (2001) se analizaron 20 cepas: 10 *Proteus mirabilis*, 9 *Escherichia coli* y 1 *Klebsiella oxytoca*. Se observaron diferencias en sensibilidad en función del género. Todas las cepas de enterobacterias fueron sensibles a ceftazidima, cefoxitina, gentamicina y netilmicina. Todas las cepas de *Proteus mirabilis* fueron sensibles además a amikacina, cefotaxima, piperacilina, ticarcilina, ciprofloxacina, enrofloxacin y marbofloxacina.

Las investigaciones de Martin (2001) concuerdan con respecto al uso de aminoglucósidos, quinolonas y cefalosporinas en el tratamiento de otitis causadas por enterobacterias.

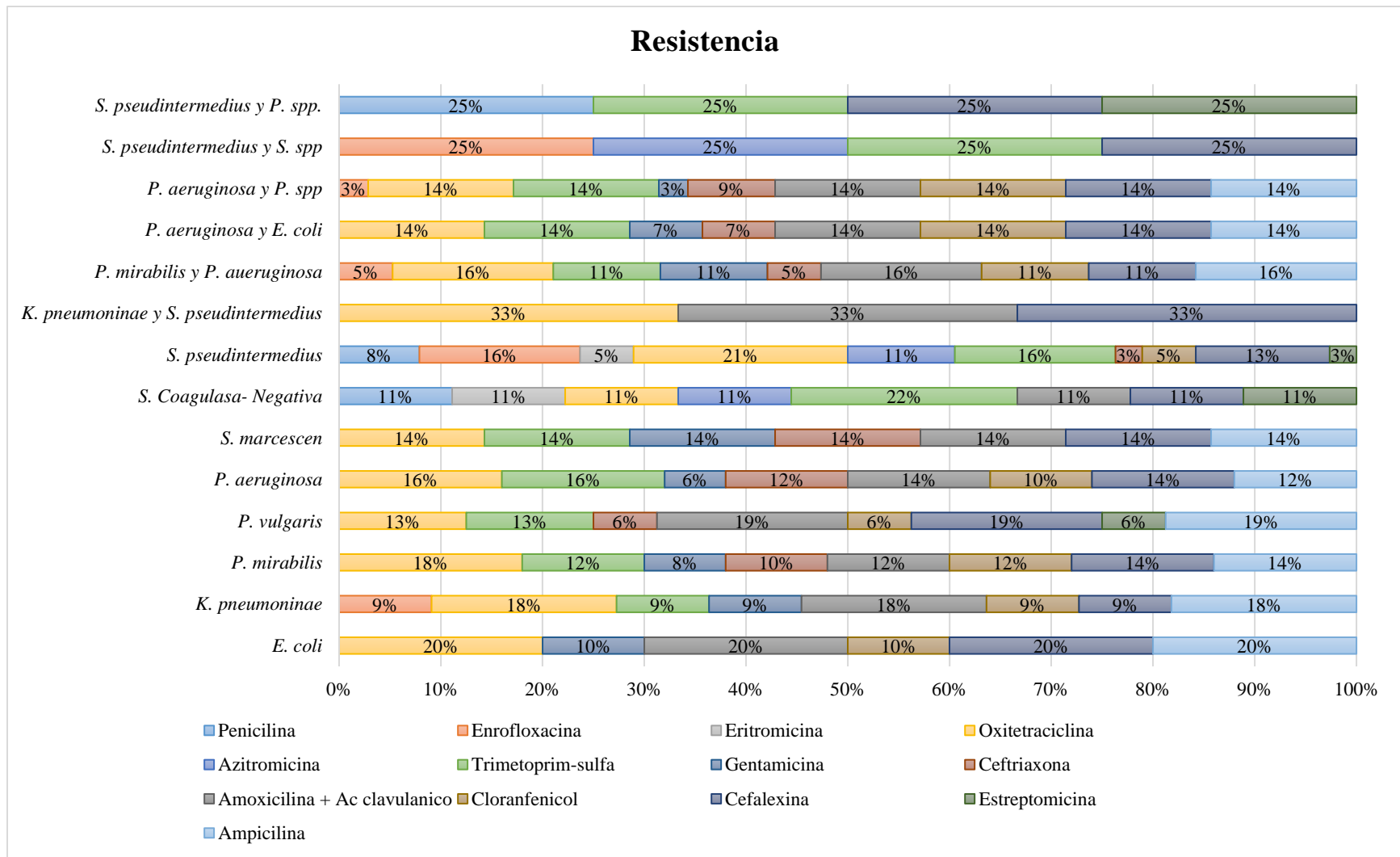


Figura 84. Resistencia de los agentes ante los antibióticos expuestos Berrios y Martínez (2018).

14 agentes a los cuales se les expusieron cefalexina presentaron resistencia a esta, con mayor predominancia están; *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* con 33%, *Staphylococcus pseudintermedius* más *Proteus spp* y *Staphylococcus pseudintermedius* más *Streptococcus spp.* 25% y *Escherichia coli* 20%.

12 agentes presentaron resistencia al ser expuestos a trimetoprim-sulfa, entre estos los más frecuentes fueron; *Staphylococcus pseudintermedius* más *Proteus spp.* y *Staphylococcus pseudintermedius* más *Streptococcus spp.* 25% y *Staphylococcus coagulasa negativo* 22%.

12 agentes presentaron de igual forma resistencia de igual forma a oxitetraciclina entre los más relevantes tenemos; *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* con 33%, *Staphylococcus pseudintermedius* con 21%, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* con 18%

11 agentes presentaron resistencia hacia amoxicilina + ácido clavulánico, los principales son; *Klebsiella pneumoniae* más *Staphylococcus pseudintermedius* 33%, *Escherichia coli* 20%, *Proteus vulgaris* 19%.

Abusleme (2009) obtuvo que de 39 cepas de *S. intermedius* aisladas, 61,5% mostraron resistencia al menos a un antimicrobiano, siendo la amoxicilina el menos efectivo (53,9% resistencia).

En los estudios de Muñoz (2012) de las cepas SCP, 58,5% fueron resistentes al menos a un antibiótico y el 30,2% fueron multiresistentes a tres o más antibióticos, no encontrándose ninguna cepa resistente a todos los fármacos en estudio. El antimicrobiano menos efectivo en este estudio fue la amoxicilina, encontrándose resistencia en el 47,2% de las cepas.

Abusleme (2009) y Muñoz (2012) coinciden en que las cepas de SCP pueden llegar a presentar resistencia a más de un antibiótico con mayor facilidad.

En los estudios de Sánchez, *et al.* (2014) las penicilinas, sulfas, tetraciclinas, lincosamidas y macrólidos fueron los antimicrobianos de menor efectividad.

4.3. Mecanismos de resistencia mediante la observación de los cambios en antibiograma.

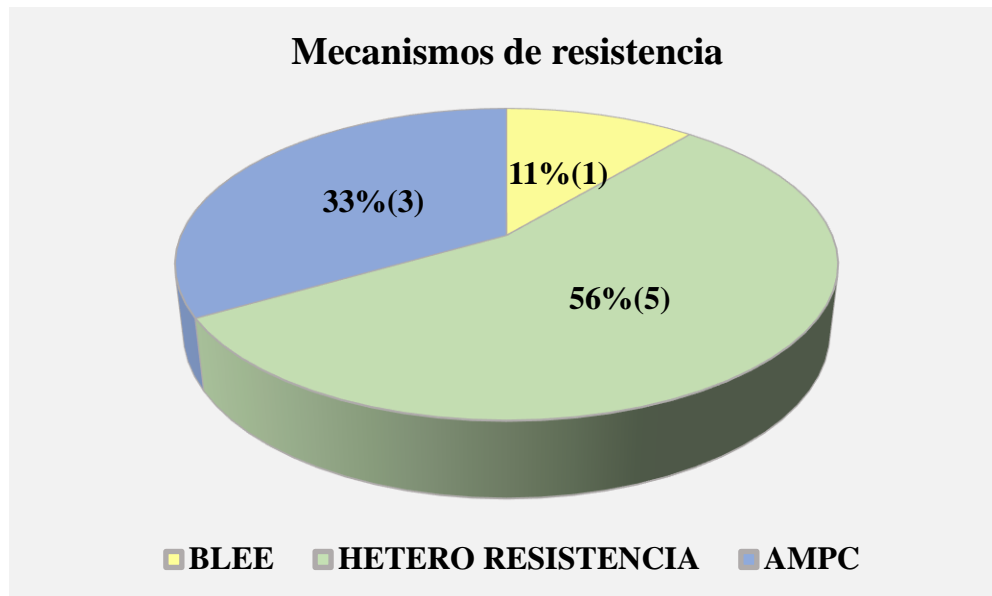


Figura 84. Mecanismos de resistencia en los cambios de antibiograma Berrios y Martínez (2018).

De las 50 muestras positivas en total, 9 muestras presentaron distintos tipos de resistencia; 56% (5 muestras) presentaron heteroresistencia, 33% (3 muestras) resistencia AmpC y 11% (1 muestra) Resistencia BLEE.

Vigo (2015) destaca el hallazgo de aislamientos de *S. pseudintermedius* heteroresistentes como una eventual problemática a considerar en el diagnóstico veterinario de laboratorio, el tratamiento de las infecciones caninas y el ámbito de la salud pública. Estando de acuerdo con el hallazgo de Vigo (2015) *S. pseudintermedius* desarrolla con facilidad resistencia poblacional presentando un reto terapéutico en la práctica veterinaria.

Moreno (2018) reportó que 17 de 26 muestras (65,4%) fueron positivas para enterobacterias productoras de BLEE, además se reporta que los animales de los aislados positivos fueron tratados previamente con antibióticos. Analizando el estudio de Moreno (2018) las enterobacterias productoras de BLEE están asociadas a casos en los que se ha practicado un tratamiento antimicrobiano el cual no hizo efecto y permitió que las bacterias desarrollaran este mecanismo de resistencia.

Los estudios de Strateva & Yordanov, (2009) indican que la beta-lactamasa AmpC (o cefalosporinasa) permite que *Pseudomonas aeruginosa* sea resistente a ampicilina, amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico, cefalosporinas de 1ª y 2ª generación e incluso, a cefotaxima y ceftriaxona. Además, esta bacteria puede adquirir resistencia a cefalosporinas de 3ª generación cuando existe una hiperproducción inducida de dicha enzima. De acuerdo con lo expuesto por Strateva & Yordanov se puede dar una falla al momento de instaurar una terapia antimicrobiana si la bacteria se expone a un antibiótico inductor de la enzima AmpC.

V. CONCLUSIONES

Las principales especies de bacterias que se aislaron durante el periodo del estudio fueron: *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus pseudintermedius* y *Pseudomonas aeruginosa* + *proteus spp*. Las cuales se encuentran asociadas a otitis de forma secundaria y como factores perpetuantes de este tipo de patología.

De los fármacos a los que fueron expuestos las bacterias, se encontró que estas presentaron mayor sensibilidad a enrofloxacin, ceftriaxona y gentamicina; Por lo tanto son los antibióticos de elección al momento de tratar una otitis, ya que son los que brindan mejores resultados en este tipo de afección, los que mayor resistencia presentaron fueron oxitetraciclina, cefalexina, amoxicilina-ácido clavulánico, trimetoprim-sulfa, ampicilina y cloranfenicol.

Los mecanismos de resistencias que presentaron las bacterias aisladas durante el estudio fueron: heteroresistencia, las cuales permiten el desarrollo de resistencia poblacional presentando un reto terapéutico en la práctica veterinaria. Cefalosporinas mediadas cromosómicamente, dando una falla al momento de instaurar una terapia antimicrobiana al exponer un antibiótico inductor de la enzima cefalosporinasas (AmpC); y betalactamasas de espectro extendido (BLEE) asociadas a casos en los que se ha practicado un tratamiento antimicrobiano el cual no hizo efecto y permitió que las bacterias desarrollaran este mecanismo de resistencia.

VI. RECOMENDACIONES

A los dueños de caninos, realizar una higiene periódica de los pabellones auriculares y el conducto auditivo. De ser necesario recortar el exceso de pelaje que pueda acumularse en la zona. Evitar durante el baño el ingreso de jabón, champú, agua o cualquier otro tipo de sustancia que pueda predisponer a la aparición de otitis de origen bacteriano, a su vez procurar la limpieza del área circundante de la mascota.

Es de vital importancia realizar chequeos rutinarios en aquellas mascotas que tengan antecedentes de otitis, preferiblemente que sean evaluados por un médico veterinario para evitar la automedicación de las misma

A los Médicos Veterinarios, hacer uso de exámenes complementarios como los cultivos óticos, para llegar a un diagnóstico acertado y evitar el desarrollo de resistencias debido al abuso de antibióticos como terapia antimicrobiana.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Abusleme, F. (2009). Aislamiento y análisis de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de staphylococcus aureus y staphylococcus intermedius de perros con otitis externa. repositorio.uchile. Chile. Recuperado de <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131354/Aislamiento-y-an%C3%A1lisis-de-susceptibilidad-antimicrobiana-de-cepas-de-Staphylococcus-aureus-y-Staphylococcus-intermedius-de-perros-con-otitis-externa.pdf?sequence=1>
- Álvarez, S., Marmolejo, M., Pérez, F. (11 marzo 2015) Prezi. México. Prezi Recuperado de <http://Elmejorgrupodequimica4to2da.blogspot.com/2011/05/>
- Craig, E. (2008). Enfermedades infecciosas del perro y el gato. Recuperado de www.intermedica.com./media/mconnect_uploadfiles/g/r/greene.pdf
- Calvo, J., Cantón, Rafael., Fernández, Felipe., Mirelis, Beatriz., y Navarro, Ferrán.,(2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos. Recuperado de <http://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientosmicrobiologia38.pdf>
- Cercenado, E., Saavedra, Lozano. (2009). El antibiograma. Interpretación del antibiograma: Conceptos generales.Elsevier.es7 (4):214-7. Recuperado de http://appswl.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?f=10&pident_articulo=80000504&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=51&ty=35&accion=L&origen=apccontinuada&web=www.apccontinuada.com&lan=es&fichero=v7n4a404pdf001.pdf&anuncioPdf=ERROR_publication.pdf
- Chaparro, A. (27 Agosto 2017). Emaze. Recuperado de <https://www.emaze.com/@AORIWIIOO/Exposici%C3%B3n>
- Casado, M., Torrico, G., y Medina, M., (2012). Libros laboratorio wordpress. Recuperado de <http://www.uees.edu.sv/editorial/publicaciones/Normas%20APA%20Sexta%20Edici%C3%B3n.pdf>
- Cole, L., Kwochka, k., Kowalski, J. y Hillier, A. (1998). *Microbial floral and microbial susceptibility patter of isolate pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media*. (Tesis de pregrado). College of Veterinary Medicine. Estados Unidos.
- Dyce, K. (1999). *Anatomía Veterinaria*. México. McGraw-Hill Interamericana
- Fernández, G., Barbosa, Glen., Villalobos, A., Parra, O., Finol, G., y Ramirez, R., (2006). Aislamiento e identificación de microorganismos presentes en 53 perros enfermos de otitis externa. FCV-LUZ. Recuperado de http://www.fcv.luz.edu.ve/images/stories/revista_cientifica/2006/01/titulo3.pdf
- Fernández, A., García, C., Sáez, J., y Valdezate, S. (2010). Método de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Recuperado de

<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

García, C. (2014). Evidencia Terapéutica. Colombia. Recuperado de <http://clinicalevidence.pbworks.com/w/page/28008154/FrontPage>

Gardeweg, M. (2012) Manual de Microdiagnostica tercera parte: Toma de muestras, medios de transporte, medios de cultivos y pruebas diferenciales. Recuperado de http://www.lablinsan.cl/manual/MANUAL_PARTE_3.pdf

Martin, J.L., Lupiota, P.A., Gonzalez, Z., Tejedor, M.T. (2001). Actividad antibacteriana de quince antibioticos frente a enterobacterias en otitis caninas externas crónicas. Recuperado de <http://dd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v21n3/11307064v21n3p269.pdf>

Moreno, M., Castillo, M., Ferrebuz, a., Osorio, W., Torres, M., y Lopez, D., (2018). Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana - Bacterial resistance in small animals, risk potential for human health. *REDVET - Revista electrónica de Veterinaria*, 19(2), 2-11. Recuperado de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n020218/021819.pdf>

Muñoz, L., Molina, M., Heresmann, M., Abusleme, F., Ulloa, MT., Borie, C., San Martin, B., Silva, B., y Anticevic, S., (2012). Primer reporte de aislamiento de *Staphylococcus schleiferi* subespecie *coagulans* en perros con pioderma y otitis externa en Chile. *Arch Med vet* 44, 261-265. Recuperado de <http://www.uees.edu.sv/editorial/publicaciones/Normas%20APA%20Sexta%20Edición.pdf>

Muller, W., Griffin, C, y Campbell, K. (2014). *Dermatología en pequeños animales*. Buenos Aires, Argentina. Intermedica

Pulido, A., Castañeda, R., Linares, M., & Mercado, M. (Marzo 2010). *Diagnóstico clínico-microbiológico de otitis externa en caninos de Bogotá – Colombia, Clinical – microbiological diagnostic of external otitis in canines in Bogotá – Colombia*. Pontificia Universidad Javeriana.

Taibo, R. (2003). *Otología: Temas de clínica y cirugía*. Recuperado de http://www.intermedica.com.ar/media/mconnect_uploadfiles/t/a/taibo.pdf

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Antibióticos utilizados

Antibióticos utilizados	
Oxitetraciclina (TE)	Enrofloxacin (ENR)
Cefalexina (CL)	Penicilina (P)
Amoxicilina + Ácido clavulánico (AMC)	Eritromicina (EM)
Trimetoprim-sulfamida (TMP)	Azitromicina (AZM)
Ampicilina (AMP)	Estreptomicina (S)
Cloranfenicol (C)	Imipenem (IMP)
Ceftriaxona (CRO)	Ciprofloxacina (CIP)
Gentamicina (GM)	Rifampicina (R)

Anexo 2. Formato de hoja de registro y resultado

[illegible]

Anexo 6. Lista de halos de inhibición CLSI

EMILIA TELLEZ5470 SANTIAGO - CHILE
TELÉFONO: 56-2-27690402 EMail: emarinsda@gmail.com



HALOS DE INHIBICIÓN CLSI: ENERO 2016 M100S 26th ed. VALIDO: HASTA MARZO DEL 2017

ANTIMICROBIANO	GEN	SIGLA	POTENCIA	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
AMIKACINA		AK	30 mcg	£14 mm	³17 mm
AMPICILINA		AM	10 mcg	£13 mm (28)* (18)H (16)E (23)Sb	³17 mm (29)* (22)H (17)E (24)Sb
AMP-SULBACTAM		SAM	10/10 mcg	£11 mm (19)H	³15 mm (20)H
AMOXICILINA		AX	25 mcg	£13 mm	³17 mm
AMOX- AC.CLAVULANICO		AMC	20/10 mcg	£13 mm (19)* (19)H	³18 mm (20)* (20) H
AMOX-SULBACTAM		SO	10/10 mcg	£13 mm (19)* (19)H	³18 mm (20)* (20) H
ACIDO NALIDIXICO		W	30 mcg	£13 mm (25)Nm	³19 mm (26)Nm
ACIDO OXOLINICO		O	2 mcg	£10 mm	³11 mm
ACIDO PIPIMIDICO		PI	20 mcg	£13 mm	³19 mm
AZITROMICINA		AZI	15 mcg	£13 mm (11)H (19)Nm	³18 mm (12)St,H (20)Nm
AZITREONAM		AZ	30 mcg	£15 mm (17) Eb (25)H	³22 mm (21)Eb (26)H
CEFADROXILO	(1)	CPH	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFACTOR	(2)	FAC	30 mcg	£14 mm (16)H	³18 mm ((20)H
CEFALEXINA	(1)	CN	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFALOTINA	(1)	CF	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFAZOLINA	(1)	CEZ	30 mcg	£19 mm (14)Inf,UrinaríasNo complicadas	³23 mm (18)*(16)Inf,UrinaríasNo complicadas
CEFAMANDOL	(2)	CMA	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFEPIME *	(4)	CPM	30 mcg	£18 mm SDD (30)N (25)H (21)Sv(23)Sb,(14) Ac	³25 mmSDD (31)N (26)H (24)Sv,Sb (14)P (18)Ac
CEFIXIMA	(3)	CFM	5 mcg	£15 mm (20)H (30)N	³19 mm (21)H (31)N
CEFOPER-SULBACTAM	(3)	SFP	30/75 mcg	£15 mm	³21 mm
CEFOTAXIMA	(3)	CTX	30 mcg	£14mm (22)Eb (25)Sv,H (30)N (23)Sb (33)Nm	³23mm(26)Eb,H (31)N (24)Sb (28)Sv (34)Nm
CEFOXITINA	(2)	CXA	30 mcg	£14 mm (21)*,A.L. (23)N (24)**	³18 mm (22)*,A.L. (28)N (25)**
CEFTROZIL	(2)	CPR	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFRADINA	(1)	CD	30 mcg	£14 mm	³18 mm
CEFTAZIDIMA	(3)	CAZ	30 mcg	£14 mm (17)Eb (25)H (30)N (17)B	³18 mm (21)Eb,B (26)H (31)N
CEFTRIAXONA	(3)	CTR	30 mcg	£13 mm (19)Eb(25)H(24)Sv(23)Sb(34)N(33)Nm	³21 mm (23)Eb (26)H(27)Sv(24)Sb(35)N(34)Nm
CEFUROXIMA i v	(2)	CXM	30 mcg	£14 mm (16)H (25)N	³18 mm (20)H (31)N
CIPROFLOXACINO		CIP	5 mcg	£15 mm (20)H (27)N (32)Nm (20)Stspp	³21 mm (21)H (41)N (21)E (35)Nm (31)Stspp
CLARITROMICINA		CLR	15 mcg	£13 mm (10)H (16)S,Sv,Sb	³18 mm (13)H (21)S,Sv,Sb
CLINDAMICINA		Da	2 mcg	£14 mm (15)S,S,Sv,Sb	³21 mm (19)S,S,Sv,Sb
CLORANFENICOL		C	30 mcg	£12 mm (25)H (20)S (17)Sv,Sb (19)Nm	³18 mm (29)H (21)S,Sv,Sb (26)Nm
CLOXACILINA		CX	1 mcg	£10 mm	³13 mm
COLISTIN		CL	10 mcg	£10 mm	³11 mm
DICLOXACILINA		DX	1 mcg	£10 mm	³13 mm
DOXICICLINA		DXS	30 mcg	£10 mm (9)Ac (12)*,E (24)S	³14 mm (13)Ac (16)*,E (28)S
ENOXACINO		E	10 mcg	£14 mm (31)N	³18 mm (36)N
ERITROMICINA		EM	15 mcg	£13 mm (15)S,Sv,Sb	³23 mm (21)S,Sv,Sb
ERTAPENEM		ETP	10 mcg	£15 mm (18)Eb (18)H	³19 mm (22)Eb (19)H
ESTREPTOMICINA		S	10 mcg	£11 mm	³15 mm
ESTREPTOMICINA 300		SE	300 mcg	£6 mmE	³10 mmE
FLUCLOXACILINA		FX	1 mcg	£10 mm	³13 mm
FOSFOMICINA		FO	200 mcg	£12 mm	³16 mm
FURAZOLIDONA		FZ	100 mcg	£14 mm	³17 mm
GENTAMICINA		GE	10 mcg	£12 mm	³15 mm
GENTAMICINA 120		G	120 mcg	£6 mm E	³10 mmE
IMIPENEM *		IPM	10 mcg	£13 mm (19)Eb (15)H,P (18)Ac	³16 mm (23)Eb (16)H (19)P (22)Ac
KANAMICINA		K	30 mcg	£13 mm	³18 mm
LEVOFLOXACINO		LVX	5 mcg	£13 mm (16)H (15)*	³17 mm(19)*
LINCOMICINA		L	2 mcg	£16 mm	³21 mm
LINEZOLID		LZD	30 mcg	£20 mm E	³21 mm (23)E
MEROPENEM *		MRP	10 mcg	£13 mm (19)Eb(19)H (15)B (29)Nm(15)P(14)Ac	³16 mm (23)Eb (20)H (20)B (30)Nm (19)P (18)Ac
MINOCICLINA		M	30 mcg	£12 mm (25)Nm (14)B,Sm,*,E	³16 mm (26)Nm (19)B,Sm,*,E
MOXIFLOXACINO		MXF	5 mcg	£20 mm (*) (17)H (14)S	³24 mm (*) (18)H (18)S
NEOMICINA		N	30 mcg	£12 mm	³17 mm
NITROFURANTOINA		NIT	300 mcg	£14 mm	³17 mm
NORFLOXACINO		NOR	10 mcg	£12 mm	³17 mm
OFLOXACINO		FLX	5 mcg	£12 mm (24)N (14)* (15)H	³16 mm (31)N (18)* (16)H
OXACILINA		OX	1 mcg	£19 mmS (10)* (17)Sp	³20 mmS (13)* (18)Sp
PENICILINA		P	10 UOF	£19 mm S (28)* (26)N (14)E (23)Sb	³20 mmS (29)* (47)N (15)E (24)Sb
PIPERACILINA		PE	100 mcg	£17 mm (14)P	³21 mm
PIPERAC/TAZOBACTAM		TZ	100/10 mcg	£17 mm (20)H (14)P	³21 mm H,P (18)*
POLIMIXINA B		PB	300 U	£11 mm	³12 mm
RIFAMPICINA		R	5 mcg	£16 mm (19)Nm	³20 mm (19)S (25)Nm
ROXITROMICINA		RXT	15 mcg	£13 mm	³23 mm
SULFATRIMETOPRIM		SXT	25 mcg	£10 mm (15)S (25)Nm	³16 mm (19)S (30)Nm
SULFONAMIDA		SF	250 mcg	£12 mm	³17 mm
TEICOPLANINA		TEI	30 mcg	£10 mm	³14 mm
TETRACICLINA		Te	30 mcg	£11 mm (24)S (30)N (25)H (14)*,E,V (18)Sv,Sb	³15 mm (28)S (38)N (29)H (19)*,E,V (23)Sv,Sb
TOBRAMICINA		TB	10 mcg	£12 mm	³15 mm
TRIMETOPRIM		TMP	5 mcg	£10 mm	³16 mm
VANCOMICINA		VA	30 mcg	£16 mm (14)E	³17 mm S,E,Sb
GENTAMICINA HLAR		G	120 mcg	£6 mm	£10 mm
ESTREPTOMICINA HLAR		ST	300 mcg	£6 mm	£10 mm